

蛋白質脱アセチル化酵素 SIRT1 の機能と病態への関与

堀 尾 嘉 幸

札幌医科大学医学部薬理学講座

Elucidation of the roles of protein deacetylase SIRT1 in health and diseases

Yoshiyuki HORIO

Departments of Pharmacology, Sapporo Medical University

ABSTRACT

Elucidation of aging is one of the most important goals of science in the post-genomic era. NAD⁺-dependent protein deacetylase was firstly identified as yeast silent information regulator 2 (Sir2), overexpression of which has the ability to extend the life span in yeast, *Drosophila* and *Caenorhabditis elegans*. SIRT1 is a mammalian homologue of yeast Sir2. We are studying SIRT1 and investigating roles of SIRT1 in health and diseases. SIRT1 has a variety of substrate proteins such as transcription factor FOXOs, transcription coactivator PGC1 α , and proteins involved in the autophagy process. We found that SIRT1 activation reduces cellular oxidative stress and improves skeletal muscle activities and cardiac function in muscular dystrophy model animals and also dystrophy patients. SIRT1 also involves in cellular migration. We found that melanoma expresses SIRT1 in lamellipodia, which is necessary for migration of melanoma cells. We found that the inhibition of SIRT1 prevents melanoma migration *in vitro* and *in vivo*. Inhibition of SIRT1 by an inhibitor significantly decreased metastasis in mice transplanted with melanoma cells.

(Accepted November 19, 2018)

Key words: SIRT1, resveratrol, muscular dystrophy, oxidative stress, migration

はじめに

NAD⁺-依存性蛋白質脱アセチル化酵素 SIRT1 は蛋白質の脱アセチル化を行う酵素である (図 1)。蛋白質の特定のリシン (リジン) 残基はアセチル化修飾を受けることが知られている。以前は分析法がほとんどなかったために、どのような蛋白質がアセチル化修飾を受けるかよくわかっていなかったが、田中耕一博士らが開発した質量分析法によって多くの蛋白質がアセチル化・脱アセチル化により機能が調節されていることがわかってきた。リン酸化・脱リン酸化による蛋白質の活性の調節がよく知られているが、アセチル化・脱アセチル化による調節によって 1000 種類を超える蛋白質の調節が行われていることが明らかとなってきた¹⁾。

リン酸化による調節はセリンやスレオニン、チロシンといったアミノ酸にリン酸基が付与されマイナス電荷を与えられることにより蛋白質の立体構造が変化し

て、その蛋白質の活性が変わったり、また、関係する蛋白質が結合したり離れたたりして機能の変化が起きる。一方のアセチル化ではリシン (リジン) 残基にアセチル基が導入されて、その結果リシン (リジン) のプラス電荷が消えて蛋白質の立体構造が変化したり、関係する蛋白質の結合が起きたり、結合が切れて離れたることによりその蛋白質機能が調節される。

SIRT1 は図 1 に示すように反応に NAD⁺ を必要とする。NAD⁺ は生体内の酸化還元反応に関与する補酵素であり、ミトコンドリア電子伝達系の維持と ATP 産生に極めて重要な分子である。即ち、SIRT1 はミトコンドリア機能と密接に関連しており、SIRT1 の活性化によりミトコンドリア機能が亢進することが知られている¹⁾。SIRT1 の基質となる蛋白質のアセチル化リシンは SIRT1 により脱アセチル化を受けてリシンに戻るが、その際、NAD⁺ は分解されて O アセチル ADP リボース (AADPR) とニコチンアミド (NAM) となる。NAM は高濃度では SIRT1 活性を抑制するが、

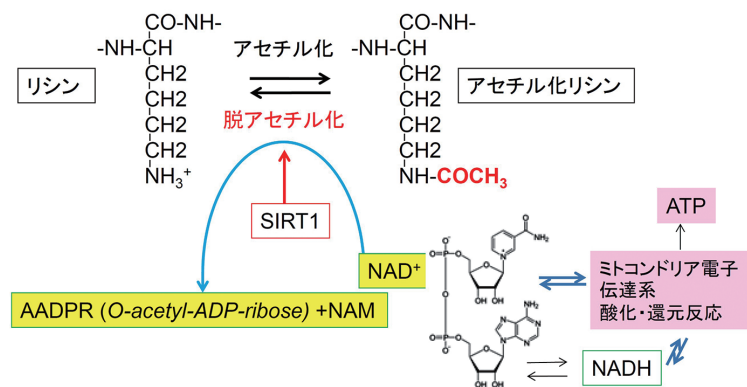


図 1. SIRT1 の酵素活性

SIRT1 は NAD⁺ を補酵素として特定の蛋白質のアセチル化リシン残基をリシン残基に戻す反応を行う。NAD⁺ は酸化還元反応に関与するとともにミトコンドリアの電子伝達系に必須であり、ATP を産生するミトコンドリア機能と SIRT1 は密接に関連している。SIRT1 以外に NAD⁺ を補酵素とする脱アセチル化酵素 (SIRT 2 ~ 7) がある。一方、NAD⁺ を必要としない HDAC と呼ばれる脱アセチル化酵素が 11 種類存在する。合計で 18 種類存在する脱アセチル化酵素はそれぞれ基質とする蛋白質が異なったり、細胞内の局在が異なったりして細胞内のアセチル化環境を調節している。なお、蛋白質のアセチル化はアセチラーゼと呼ばれる酵素により行われ、アセチラーゼにも多種類が存在している。

低濃度では生体内で NAD⁺ に戻され、SIRT1 の活性に寄与する。

図 2 に示すように SIRT1 はきわめて多様な働きをおこなっているが、このことは SIRT1 の基質蛋白質が多く存在することによって¹⁾。SIRT1 の代謝に対する作用がよく研究されており、SIRT1 の活性化はミトコンドリア機能を強化し、より少量のエネルギー源から効率良く ATP を産生させ、蓄積した脂肪を燃焼させて飢餓の際に個体の生存を図る働きがある。また、体内の抗酸化酵素を活性化させ、DNA 修復を亢進、炎症を抑制する働きも存在している¹⁾ (図 2)。

SIRT1 とレスベラトロール

レスベラトロールは植物ポリフェノールの 1 つで、植物が傷付けられたり、ウイルス感染したりすると

いったストレス下で多く産生される。ブドウ果皮や赤ワインがレスベラトロールをもつことで有名であるが、他にもいろいろな植物がレスベラトロール合成系を持っている。イタドリもレスベラトロールを多量に含む植物でその根が漢方薬 (虎杖根) として使われる。虎杖根には緩下・利尿作用があり、一方、レスベラトロールにも服用量が多いと緩下作用が見られるが、虎杖根の作用がレスベラトロールに由来するかどうかは研究がない。さて、脂肪摂取量と心筋梗塞の発症には相関関係がある。だが、脂肪摂取量が多くてもワインを多く飲む国ではワインをあまり飲まない国よりも心筋梗塞死が少ない。フランス人の虚血性心疾患による死亡頻度の低い理由をワイン摂取量で説明しようとするのがフレンチパラドックス説である²⁾。レスベラトロールは赤ワインに含まれることからレスベラトロー

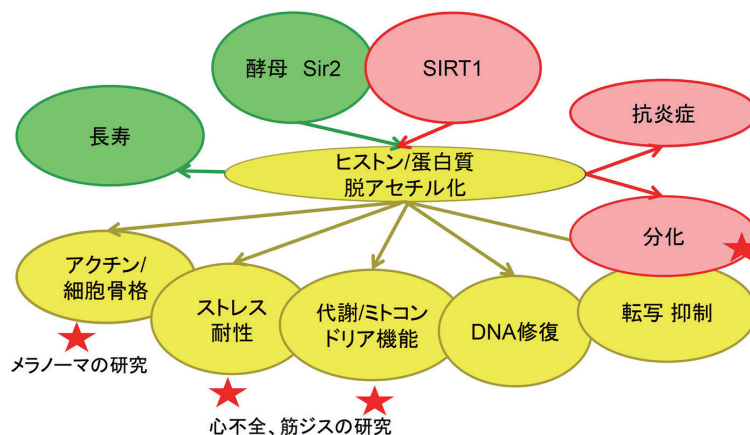


図 2. SIRT1 と Sir2 (酵母) の機能

SIRT1 には極めて多様な機能があることが報告されている。酵母 Sir2 は過剰発現させると酵母の寿命を伸ばす。SIRT1 の機能を赤色で、Sir2 の機能を緑色、両者ともに存在する機能を黄色で表示している。私たちのグループで研究を行っている機能に星印を付けた。

ルが「フレンチパラドックス」が起きる原因ではないかという説がある。しかし、赤ワインのレスベラトロールの含有量は決して多くはない。毎日 1 L のワインを摂取しても、動物実験で観察されるレスベラトロールによる脂質代謝促進作用³⁾にはほど遠い少量となる。ただ、レスベラトロールが少量でも長期に投与した場合に効かないかという点については研究がなく答えることが難しい。

レスベラトロールは SIRT1 を活性化する。レスベラトロールを代表とするサリチン系活性化化合物 (STACs) は SIRT1 分子の N 末端側に直接結合して、SIRT1 の立体構造を変化させて SIRT1 の基質 (アセチル化された蛋白質) への結合性を高めて酵素活性を上げる^{4), 5)}。一方で、レスベラトロールは SIRT1 以外の蛋白質分子、例えば PPAR α や AMP-activated protein kinase (AMPK) などに直接作用して活性化することが知られている。

著者らの研究について

著者らのグループはこれまでに、SIRT1 は必要に応じて核内と細胞質を移動して働き⁶⁾、神経幹細胞の神経細胞への分化⁷⁾や心筋細胞保護⁸⁾、オートファジー⁹⁾、ROS 低下作用と細胞のストレス耐性¹⁰⁾に働くことを明らかとしてきた。これらの論文はいずれも引用が 100 件を超え、中でも SIRT1 の核-細胞質移行メカニズムを明らかとした論文の引用件数は 361 件となっている (2018 年 11 月, Web of Sci. Core Collection)。以下に最近の研究について紹介する。私たちは心不全や筋ジストロフィー、メラノーマなどの疾患と SIRT1 の関連を調べている。

SIRT1 の機能と筋ジストロフィー

心筋細胞では SIRT1 活性化は抗酸化酵素 SOD2 (MnSOD) を誘導して細胞の酸化ストレスを低下させ細胞死を抑制する⁸⁾。そこで、SIRT1 活性化が心不全に治療効果を持つのではないかと考え心不全のモデル動物 (TO-2 ハムスター) にレスベラトロールを経口投与する実験を行った。TO-2 ハムスターは遺伝性の遅発性心不全のモデル動物で、ジストロフィン複合体を構成する δ -サルコグリカンの遺伝子に変異を持つ。レスベラトロールは TO-2 ハムスター心筋で SOD2 を誘導するばかりでなく、心肥大や心線維化を抑制し寿命をも有意に伸ばした¹⁰⁾。そこで、レスベラトロールが一般の筋ジストロフィーにも有効である可能性を考えて、Duchenne 型筋ジストロフィーのモデルマウスであるジストロフィン変異 *mdx* マウスにレスベラトロールの経口投与実験を行った¹¹⁾。

mdx マウスへのレスベラトロールの経口投与 (4 g/kg 餌) は骨格筋において活性酸素量を下げ、組織線維化

を抑制するとともに、骨格筋の速筋蛋白質 mRNA を 2 倍以上に、さらに遅筋 mRNA を 5 倍程度まで増加させた¹¹⁾。また、心筋についても心肥大と組織線維化を抑制し、さらに心機能低下を抑制した¹²⁾。レスベラトロールや SIRT1 活性化が筋ジストロフィーの治療に有効であることは他のグループからも報告され¹³⁾⁻¹⁶⁾、また、SIRT1 の補酵素である NAD⁺ の前駆物質ニコチンアミドリボシドを投与することによって SIRT1 を活性化しても筋ジストロフィーに治療効果がもたらされることが報告された¹⁷⁾。

私たちの最初の *mdx* マウスを使った治療研究では餌 1 kg にレスベラトロールを 4 g を混ぜて投与し、レスベラトロールの推定摂取量は 500mg/kg 体重/日程度と推定された¹¹⁾。レスベラトロールは脂溶性が高く、細胞膜や脂肪に移行しやすいという性質がある一方で、その代謝はきわめて速やかである。また、過大な量ではレスベラトロールはミトコンドリアの脱分極を起こす作用があり¹⁸⁾、ミトコンドリアが脱分極するとミトコンドリアから活性酸素が放出される。従って、レスベラトロールの過剰投与は却って細胞傷害を高めると考えられる。一方、レスベラトロールによるマウスのインスリン感受性や糖代謝の改善効果は低用量 (2.5mg/kg 体重/日) でも有効である¹⁹⁾。そこで、ジストロフィン変異 *mdx* マウスにおいてのレスベラトロールの至適投与量を調べるために餌 1 kg にレスベラトロールを 0.04 g, 0.4 g, 4 g の 3 段階に変えて投与を行った。さらにレスベラトロールの作用機序について、骨格筋ではレスベラトロールが抗酸化酵素 SOD2 を有意には増加させないために、何らかの作用メカニズムが別に存在する可能性を考え、レスベラトロールがもつオートファジー活性化作用に注目して⁹⁾、ミトコンドリアオートファジー (マイトファジー) と酸化ストレス低下との関連を調べた^{20), 21)}。

レスベラトロールは最大投与量 (4 g/kg 餌) で 56 週間連続投与しても *mdx* マウスには毒性は観察されなかった。レスベラトロールはロータロッド法とネット反転試験法により測定した *mdx* マウスの運動持久能を有意に改善し、どちらも非投与の場合に比べて約 2 倍の数値となり、レスベラトロールの最少の投与量 (0.04 g/kg 餌) でも有意に運動能を高めた²¹⁾。また、筋の崩壊の指標である血中クレアチンキナーゼ活性はレスベラトロールにより低下して、0.4 g/kg 餌の投与量ではコントロール *mdx* マウスに比べて約 1/3 に下がった²¹⁾。

オートファジーは細胞内の不要な蛋白質、障害されたミトコンドリアなどを処分する細胞生存に必須な機能である。障害されたミトコンドリアでは電子伝達系の異常により活性酸素が放出されるため、障害ミトコンドリアは細胞内で最も大きな活性酸素発生源となっ

ている²³⁾。オートファジーが障害されると、傷を持つミトコンドリアが細胞内に蓄積して細胞の酸化ストレス量が高くなることが考えられる。*mdx* マウスではオートファジーが抑制されることが報告され²²⁾、我々もオートファジーやミトコンドリアオートファジー（マイトファジー）が *mdx* マウスの心筋や骨格筋で抑制されていることを確認した。*mdx* マウスにレスベラトロールを投与してオートファジーおよびマイトファジーを調べたところ、レスベラトロールは3段階のすべての投与量でオートファジーやマイトファジー機能に関連する多くの分子の発現量を有意に増加させた。オートファジーの進み具合はオートファジーフラックスで測定できる。オートファジーフラックスは未治療の *mdx* マウスでは抑制されており、レスベラトロールを投与した *mdx* マウスの心筋と骨格筋ではオートファジー機能が回復することが判明した^{20), 21)}。

mTORC1 は蛋白質合成の司令塔として働くリン酸化酵素である。*mdx* マウスではオートファジーを抑制する働きを持つ mTORC1 が活性化していることが報告されている²²⁾。常に筋の崩壊が続く筋ジストロフィーでは新たな筋蛋白質の合成を活性化させるために、mTORC1 の活性が高まって筋蛋白質の合成を促しているものと考えられる。私たちも mTORC1 の活性化を確認した。レスベラトロールは mTORC1 活性を抑制せずに、mTORC1 で抑制されたオートファジーやマイトファジー関連の遺伝子の転写を増加させ、さらにオートファジーを活性化した。mTORC1 阻害薬のラパマイシンがオートファジーを促して酸化ストレスレベルを下げて筋ジストロフィーに治療効果を持つことが報告されている²⁴⁾ が、mTORC1 阻害薬は筋蛋白質の合成を阻害するために長期の投与を考えると筋ジストロフィー治療には向かないと考えられる。ラパ

マイシンに比べてレスベラトロールは筋蛋白質の合成を阻害しない点が優れていると考えられる。

さらに、*mdx* マウスのミトコンドリアを long range PCR 法で調べてみると、心筋ではミトコンドリア DNA に欠損を持った異常ミトコンドリアが多く存在することを見出した²⁰⁾。*mdx* マウスの組織では酸化ストレスレベルが極めて高く、酸化ストレスにより DNA の傷害や欠失が出現し、同時に、筋ジストロフィー特有の現象として活性化した mTORC1 によるオートファジー・マイトファジーの抑制があつて異常ミトコンドリアが細胞内に留まり続けると考えられる²⁰⁾。細胞内の酸化ストレスの大部分は異常なミトコンドリアから産生されると言われている²³⁾。蓄積した異常ミトコンドリアは活性酸素の発生源となることで、異常ミトコンドリアより涌出された活性酸素がさらにより多くのミトコンドリア DNA を傷害していくと考えられえた。レスベラトロールは SIRT1 活性化を介してマイトファジー促進作用によりその抗酸化作用を発揮することを明らかにした^{20), 21)} (図 3)。C2C12 筋芽細胞を用いてマイトファジーに必要な Pink1 の発現をノックダウンするとレスベラトロールの抗酸化作用がなくなり、マイトファジーがレスベラトロールの抗酸化作用に必須であることがわかった²¹⁾ (図 3)。*mdx* マウスではミトコンドリアの異常は年を重ねると積み重なっていくと考えられ、年齢とともに悪化していくという筋ジストロフィーの病態を説明できるものではないかと考え現在研究を継続している。

レスベラトロールの投与はオートファジー・マイトファジーを活性化させることにより異常ミトコンドリアを減少させて、酸化ストレスレベルを低下させた^{20), 21)}。筋ジストロフィーでは筋の脆弱性があるため絶えず筋

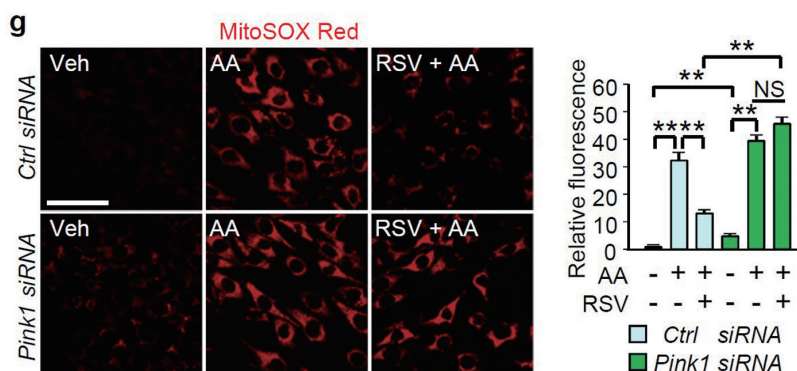


図 3. レスベラトロールの抗酸化作用とマイトファジー²¹⁾

C2C12細胞にアンチマイシン (AA) を作用させてミトコンドリア活性酸素量をMitoSOX Redで測定し、その値を棒グラフで表示した。レスベラトロール (RSV) はコントロール siRNA 下では活性酸素量を有意に低下させたが、マイトファジーに必要な Pink1 を Pink1 siRNA を用いてノックダウンすると、レスベラトロールの抗酸化作用は完全に消失した。従って、レスベラトロールの抗酸化作用はマイトファジーに依存することがわかった。Veh は AA と RSV を処置しない細胞。スケールは 50 μ m。n=6。データは means \pm SEM。

**P<0.01. NS: not significant.

の崩壊が起き、筋細胞へ Ca^{2+} の流入が起きる。流入した過剰の Ca^{2+} はミトコンドリアに取り込まれミトコンドリアの膜電位を脱分極させて活性酸素が発生し、DNA の傷害に繋がっていくと考えられる。一方、mTORC1 の活性化のために DNA の損傷をもつ異常ミトコンドリアのマイトファジーが阻害され、筋細胞に蓄積した異常ミトコンドリアから絶えず活性酸素が放出されて、病態を悪化させているものと考えられた。ミトコンドリア DNA の変異によってミトコンドリアの機能低下がおきる病態（遺伝性ミトコンドリア病）が知られているが、私たちは筋ジストロフィーにおいても似たような病態が存在するのではないかと考えている。即ち、筋ジストロフィーでは mTORC1 活性化に伴いマイトファジーが抑制されて、本来なら処分されるべき異常ミトコンドリアが処分されずに蓄積して、二次的にミトコンドリア病類似状態（二次性ミトコンドリア病）になっているのではないかと推測している²⁰⁾。

レスベラトロールによる臨床研究

レスベラトロールは健康食品として市販されている。臨床研究審査委員会の承認の下に札幌医科大学附属病院において、11 名の筋ジストロフィーの患者さんのご協力を得て（Duchenne 型 5 名（12 歳～39 歳）、Becker 型 4 名（23 歳～46 歳）、福山型（12 歳と 17 歳））レスベラトロールの投与の臨床研究を小児科学講座が中心となって行った（Kawamura et al. 投稿準備中）。レスベラトロールは 500mg/日 8 週間投与した後、1000mg/日に増量して 8 週間、さらに 1500mg/日として 8 週間の連続投与を行った。被験者は 1 名を除いてすべて男性で歩行可能なものは 4 名であった。

レスベラトロールの副作用では既報にある下痢と腹痛が一部に見られたが、大きな副作用は観察されなかった。研究に参加した 11 名の患者さんの多くは病態がかなり進行しており、測定が出来ない項目も多数存在した。肩甲骨の拳上力が測定できた 10 名についてレスベラトロールは肩の拳上力を有意に上昇させ、投与 24 週後では平均 2 倍となり、最も上昇した人では約 3 倍に増加した。また、5 名が測定可能であった肩の外転力も平均で 2 倍の増加が見られた。一方、指でつまむ力を測定したが有意な増加が見られなかった。遠位筋にはレスベラトロールによる筋力増強作用が出ていく可能性があるが原因は今のところよくわからない。32 項目からなる運動機能評価（motor function measure scale）では、投与 16 週目と 24 週目に有意な上昇（約 10%）が見られた。一方、血中クレアチンキナーゼ値はレスベラトロールにより低下が見られる人もいたが、全体では変動が激しく有意な低下は捉えられなかった。レスベラトロールの血中濃度は投与量

に応じて上昇が見られ、投与後 2-3 時間でピークを迎え、その後急速に低下することが判明した。以上のことから、レスベラトロールは筋ジストロフィーに有る程度の治療効果をもたらすことができると考えられた。

今回の検討では、病態が非常に進行している患者さんが多く含まれており、筋肉量が顕著に減少してしまった人ではレスベラトロールの効果は全く観察されなかった。レスベラトロールの治療効果のおそらく主要な部分は SIRT1 の活性化による抗酸化作用、マイトファジー、転写因子 FOXOs や転写のコアクチベータの PGC1 α 活性化などが関与しているものと推察している。従って、SIRT1 を活性化できるニコチンアミドリボシドなどの NAD⁺ 前駆物質の投与によっても筋ジストロフィーに同様な効果が得られるものと考えている。現在のところ、レスベラトロールは食品の扱いであり、治療に使う場合には医薬品として開発する必要がある。これまで人に投与されてきた実績やさらに開発を含めた経費の面を勘案しても、レスベラトロールは医薬品として優れたものを持っており、現在、レスベラトロールが筋ジストロフィーの治療薬として認められるべく努力している。

メラノーマと SIRT1

メラノーマ（悪性黒色腫）はメラノサイト由来の癌でありその頻度は白人に多く欧米では人口 10 万人あたりに 20 人ほど、我国ではその 1/10 程度である。治療は手術による切除が中心であるが、転移が起きやすい特徴を有しており、進行した場合その予後はよくない。私たちは皮膚科学講座と共同研究でメラノーマ細胞が移動する際に SIRT1 を抑制すると細胞移動が妨げられることを見出した。そこで、メラノーマの細胞移動と SIRT1 の関係について詳しく調べた。メラノーマ細胞を血清などで刺激すると細胞移動を起こすが、この際に移動方向へ向かってラメリポディアという扇状の突起物を伸ばす。抗体を用いた免疫染色により SIRT1 はメラノーマ細胞では細胞質に存在しており、ラメリポディア内では膜直下に SIRT1 が存在することを見出した²⁵⁾（図 4a）。SIRT1 mRNA を siRNA を用いてノックダウンするとラメリポディアの形成が妨げられ、このことが細胞移動を阻害することが判明した（図 4b）。同様に、SIRT1 活性を高濃度のニコチンアミドで阻害するとラメリポディア形成が阻害された（図 4c）。Rac という小分子 GTPase はラメリポディア依存性の細胞移動に必須な分子であるが、SIRT1 の阻害は活性型 Rac によるラメリポディア形成も抑制したことから、SIRT1 は Rac よりもラメリポディア形成の上流因子を調節するものと考えられた。ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼは膜直下で PIP2 から PIP3 を形成するリン脂質リン酸化

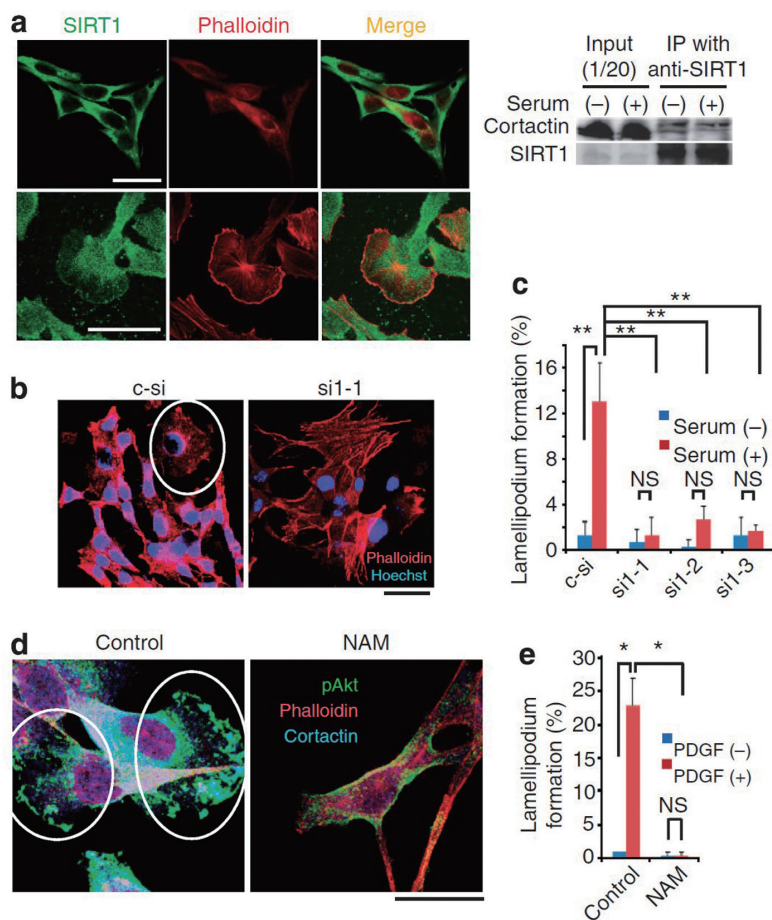


図 4. SIRT1 は細胞のラメリポディア形成に必要である²⁵⁾

a. (左) B16F1 マウスメラノーマ細胞では SIRT1 (緑) は細胞質に存在しており、血清添加して刺激すると形成されるラメリポディア (扇状の細胞突起物) の膜直下に SIRT1 の強い発現が見られる。 (右) SIRT1 は細胞膜の下に存在する cortactin という蛋白質と結合しているが、その結合の強さは血清の有無で変化がない。 b, c. B16F1 細胞で SIRT1 を siRNA (si1-1, si1-2, si1-3) でノックダウンすると、血清刺激をしてもラメリポディアが形成されなくなる。 d, e. ニコチンアミド (NAM) で SIRT1 を阻害しても SIRT1-siRNA 同様にラメリポディア形成が阻害される。スケールは 10 μ m. n \geq 3. データは means \pm SD. *P<0.05. **P<0.005. NS: not significant.

酵素である。ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼは Rac の上流因子としてラメリポディア形成に必須の分子であり、その阻害はラメリポディア形成を抑制する。我々は、ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ活性への SIRT1 の働きを調べるために、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 法を用いて PIP3 形成への SIRT1 阻害の作用を調べたところ、SIRT1 の阻害は PIP3 の形成を阻害することが判明した。現在の所、SIRT1 が直接ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼを活性化するか、或いはその関連分子を調節することにより間接的に活性化するか検討している。マウスに移植したメラノーマ細胞の転移は SIRT1 をノックダウンしたメラノーマ細胞をマウスに移植した場合にノックダウンしないメラノーマ細胞の移植に比べて有意にその転移が抑制されていた。さらに、通常のメラノーマ細胞を移植したマウスの寿命を SIRT1 阻害剤投与は有意に延長した²⁵⁾。以上のことから SIRT1

がメラノーマをはじめとしたラメリポディア依存性の細胞移動に必須の分子であり、その阻害は癌転移を抑制することができることが考えられ、癌転移抑制への臨床応用について今後検討していきたいと考えている。

終わりに

以上の研究は医学部薬理学講座の丹野雅也元助教 (現、循環器・腎臓・代謝内分泌内科学講座准教授)、久原真元助教 (現、神経内科学講座 3/1 より准教授予定)、久野篤史准教授 (循環器・腎臓・代謝内分泌内科学講座兼務)、林貴士元助教 (神経内科学講座兼務)、國本梨沙助教、細田隆介助教、岩原直敏助教 (神経内科学講座兼務)、大学院生の佐藤誠弘先生、堀本浩平先生 (現皮膚科学講座助教)、瀬堀理生先生、医学部学生の堀佑輔先生 (現、在米) が中心となり、循環器・腎臓・代謝内分泌内科学講座の島本和明前学長・名誉教授、三浦哲嗣教授、神経内科学講座下濱俊教授、小

児科学講座堤裕幸名誉教授, 川村健太郎先生, 福村忍助教, 二階堂光輝先生, 館延忠先生, 畠山欣也先生, 皮膚科学講座の神保孝一名誉教授, 山下利春名誉教授, 脳神経外科学講座杉野寿哉先生 (現, 在ドイツ), 医療統計学の樋之津史郎教授, 保健医療学部理学療法学科理学療法第一講座の小塚直樹教授, 清野緒球先生, 北海道医療大学の谷村明彦教授, 放射線医学総合研究所の廣部知久先生, 北海道大学の伊藤陽一先生および愛知医科大学の高見昭義教授にご協力頂きました。この場をお借りして感謝申し上げます。

文献

- Horio Y, Hayashi T, Kuno A, Kunimoto R. Cellular and molecular effects of sirtuins in health and disease. *Clin Sci (Lond)* 2011; 121: 191-203.
- Renaud S1, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339: 1523-1526.
- Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Pistell PJ, Poosala S, Becker KG, Boss O, Gwinn D, Wang M, Ramaswamy S, Fishbein KW, Spencer RG, Lakatta EG, Le Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, de Cabo R, Sinclair DA. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444: 337-342.
- Dai H, Case AW, Riera TV, Considine T, Lee JE, Hamuro Y, Zhao H, Jiang Y, Sweitzer SM, Pietrak B, Schwartz B, Blum CA, Disch JS, Caldwell R, Szczepankiewicz B, Oalman C, Yee Ng P, White BH, Casaubon R, Narayan R, Koppetsch K, Bourbonais F, Wu B, Wang J, Qian D, Jiang F, Mao C, Wang M, Hu E, Wu JC, Perni RB, Vlasuk GP, Ellis JL. Crystallographic structure of a small molecule SIRT1 activator-enzyme complex. *Nat Commun* 2015; 6: 7645. doi: 10.1038/ncomms8645.
- Bonkowski MS1, Sinclair DA. Slowing ageing by design: the rise of NAD⁺ and sirtuin-activating compounds. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016; 17: 679-690.
- Tanno M, Sakamoto J, Miura T, Shimamoto K, Horio Y. Nucleocytoplasmic shuttling of the NAD⁺-dependent histone deacetylase SIRT1. *J Biol Chem* 2007; 282: 6823-6832.
- Hisahara S, Chiba S, Matsumoto H, Tanno M, Yagi H, Shimohama S, Sato M, Horio Y. Histone deacetylase SIRT1 modulates neuronal differentiation by its nuclear translocation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 15599-15604.
- Tanno M, Kuno A, Yano T, Miura T, Hisahara S, Ishikawa S, Shimamoto K, Horio Y. Induction of manganese superoxide dismutase by nuclear translocation and activation of SIRT1 promotes cell survival in chronic heart failure. *J Biol Chem* 2010; 285: 8375-8382.
- Morselli E, Mariño G, Bennetzen MV, Eisenberg T, Megalou E, Schroeder S, Cabrera S, Bénit P, Rustin P, Criollo A, Kepp O, Galluzzi L, Shen S, Malik SA, Maiuri MC, Horio Y, López-Otín C, Andersen JS, Tavernarakis N, Madeo F, Kroemer G. Spermidine and resveratrol induce autophagy by distinct pathways converging on the acetylproteome. *J Cell Biol* 2011; 192: 615-629.
- Hori YS, Kuno A, Hosoda R, Horio Y. Regulation of FOXOs and p53 by SIRT1 modulators under oxidative stress. *PLoS ONE* 2013; 8: e73875. doi: 10.1371/journal.pone.0073875.
- Hori YS, Kuno A, Hosoda R, Tanno M, Miura T, Shimamoto K, Horio Y. Resveratrol ameliorates muscular pathology in the dystrophic mdx mouse, a model for Duchenne muscular dystrophy. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 338: 784-794.
- Kuno A, Hori YS, Hosoda R, Tanno M, Miura T, Shimamoto K, Horio Y. Resveratrol improves cardiomyopathy in dystrophin-deficient mice through SIRT1 protein-mediated modulation of p300 protein. *J Biol Chem*, 2013; 288: 5963-5972.
- Gordon BS, Delgado Diaz DC, Kostek MC. Resveratrol decreases inflammation and increases utrophin gene expression in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Clin Nutr* 2013; 32: 104-111.
- Ljubcic V, Burt M, Lunde JA, Jasmin BJ. Resveratrol induces expression of the slow, oxidative phenotype in mdx mouse muscle together with enhanced activity of the SIRT1-PGC-1 α axis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2014; 307: C66-82.
- Selsby JT, Morine KJ, Pendrak K, Barton ER, Sweeney HL. Rescue of dystrophic skeletal muscle by PGC-1 α involves a fast to slow fiber type shift in the mdx mouse. *PLoS One* 2012; 7: e30063. doi: 10.1371/journal.pone.0030063
- Chalkiadaki A, Igarashi M, Nasamu AS, Knezevic J, Guarente L. Muscle-specific SIRT1 gain-of-function increases slow-twitch fibers and ameliorates pathophysiology in a mouse model of duchenne muscular dystrophy. *PLoS Genet* 2014; 10: e1004490. doi: 10.1371/journal.pgen.1004490.
- Ryu D, Zhang H, Ropelle ER, Sorrentino V, Mázala DA, Mouchiroud L, Marshall PL, Campbell MD, Ali AS, Knowels GM, Bellemin S, Iyer SR, Wang X, Gariani K, Sauve AA, Cantó C, Conley KE, Walter L, Lovering RM, Chin ER, Jasmin BJ, Marcinek DJ, Menzies KJ, Auwerx J. NAD⁺ repletion improves muscle function in muscular dystrophy and counters global PARylation. *Sci Transl Med* 2016; 8: 361-369.
- Dorrie J, Gerauer H, Wachter Y, Zunino SJ. Resveratrol induces extensive apoptosis by depolarizing mitochondrial membranes and activating caspase-9 in acute lymphoblastic leukemia cells. *Cancer Res* 2001; 61: 4731-4739.
- Sun C, Zhang F, Ge X, Yan T, Chen X, Shi X, Zhai Q. SIRT1 improves insulin sensitivity under insulin-resistant conditions by repressing PTP1B. *Cell Metab* 2007; 6: 307-319.
- Kuno A, Hosoda R, Sebori R, Hayashi T, Sakuragi H, Tanabe M, Horio Y. Resveratrol Ameliorates Mitophagy Disturbance and Improves Cardiac Pathophysiology of Dystrophin-deficient mdx Mice. *Sci Rep* 2018; 8: 15555.
- Sebori R, Kuno A, Hosoda R, Hayashi T, Horio Y. Resveratrol decreases oxidative stress by restoring mitophagy and improves the pathophysiology of dystrophin-deficient mdx mice. *Oxid Med Cell Longev* 2018; Article ID 9179270. doi:

- 10.1155/2018/9179270.
- 22) De Palma C, Morisi F, Cheli S, Pambianco S, Cappello V, Vezzoli M, Rovere-Querini P, Moggio M, Ripolone M, Francolini M, Sandri M, Clementi E. Autophagy as a new therapeutic target in Duchenne muscular dystrophy. *Cell Death Dis* 2012; 3: e418. doi: 10.1038/cddis.2012.159.
- 23) Balaban RS, Nemoto S and Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell* 2005; 120: 483-495.
- 24) Egtesad S, Jhunjhunwala S, Little SR, Clemens PR. Rapamycin ameliorates dystrophic phenotype in mdx mouse skeletal muscle. *Mol Med* 2011; 17: 917-924.
- 25) Kunimoto R, Jimbow K, Tanimura A, Sato M, Horimoto K,

Hayashi T, Hisahara S, Sugino T, Hirobe T, Yamashita T, Horio Y. SIRT1 regulates lamellipodium extension and migration of melanoma cells. *J Invest Dermatol* 2014; 134: 1693-1700

別刷請求先：堀尾 嘉幸

〒060-8556 札幌市中央区南1条西17丁目

札幌医科大学医学部薬理学講座

TEL：011-611-2111（内線27200）

E-mail：horio@sapmed.ac.jp